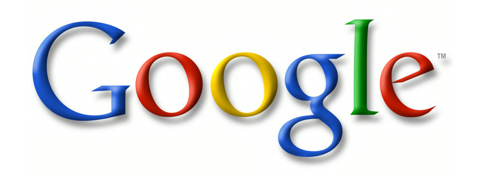
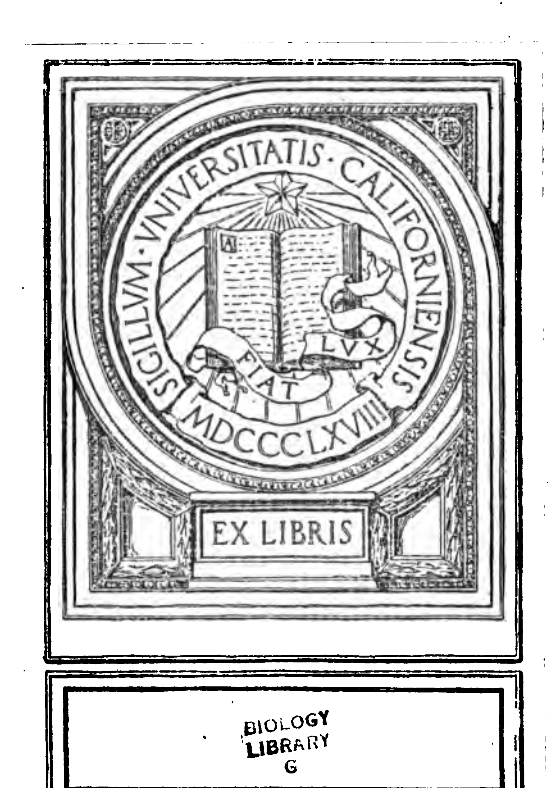
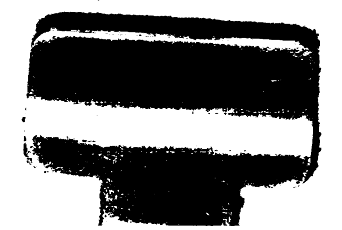
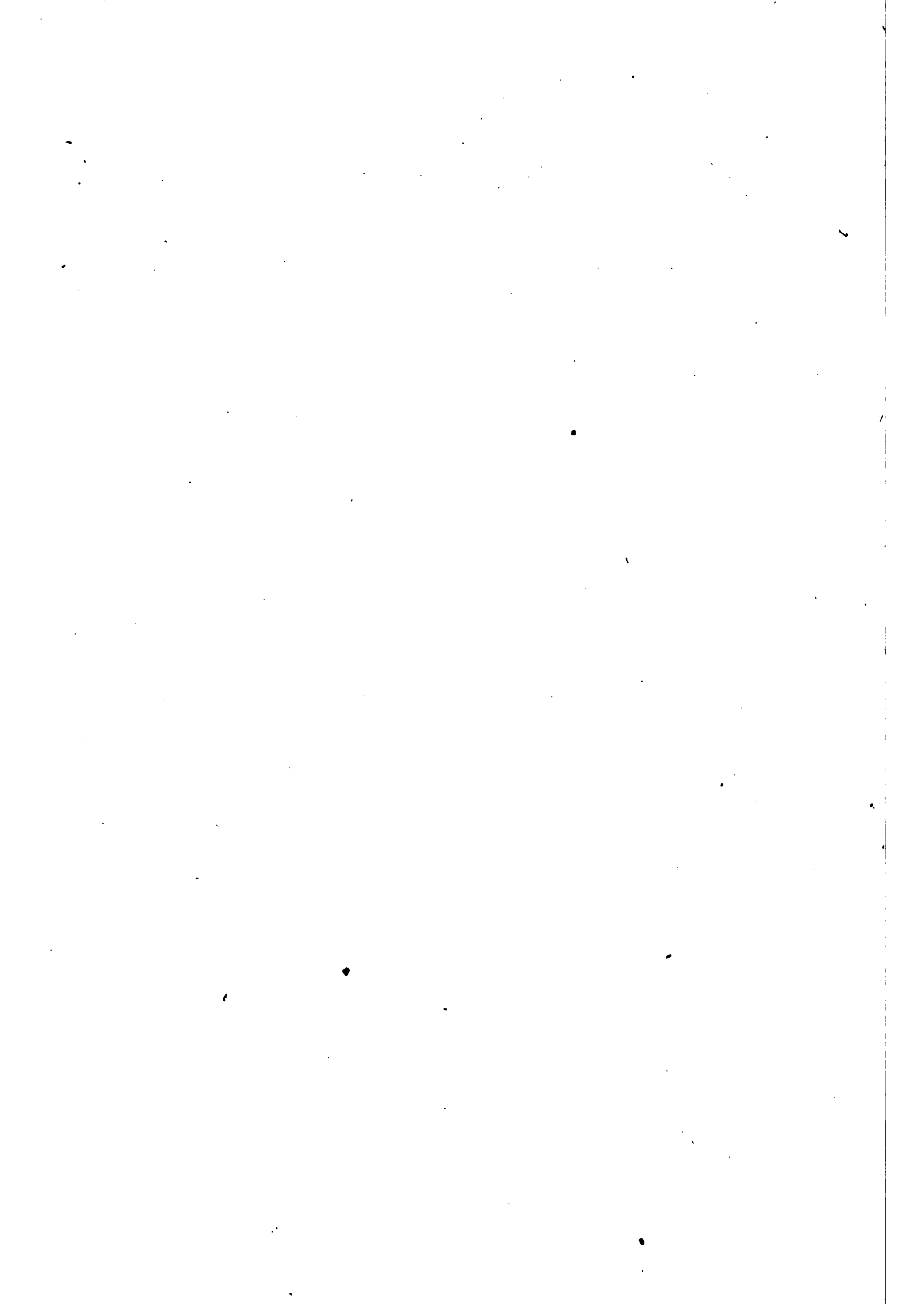



UC-NRLF
$B 96 966


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS





Spezifizität der Antikörperbildung.

Von

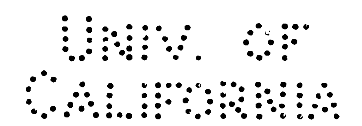
Prof. Frhr. von Dungern.

Mit 26 Abbildungen im Text.

Abdruck
aus
**Festschrift zum sechzigsten Geburtstage
von Robert Koch**
herausgegeben
von seinen dankbaren Schülern.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1903.



Spezifizität der Antikörperbildung.

Von

Prof. Frhr. von Dungern.

Mit 26 Kurven.

Die von R. Koch jederzeit vertretene Lehre von der Spezifizität der Infektionserreger hat durch die Immunitätsforschung volle Bestätigung gefunden. Es hat sich gezeigt, daß man mit Hilfe spezifisch erzeugter Immunkörper die meisten Infektionserreger von verwandten Spaltpilzen sicher unterscheiden kann (R. Pfeiffer, Gruber und Durham u. a.).

Die gleiche Spezifizität beobachtet man auch bei allen anderen Bestandteilen der Lebewesen, die nach einem allgemeinen biologischen Gesetz im Organismus eines fremdartigen Warmblüters zur Bildung von Antikörpern Veranlassung geben. Absolut ist diese Spezifizität freilich nicht: die erhaltenen Immunsera beeinflussen nicht nur die zu ihrer Erzeugung benutzten protoplasmatischen Substanzen, sondern in geringerem Grade auch solche, die biologisch nahestehenden Arten angehören. Es entstehen, wie man durch elektive Absorption nachweisen kann, nebeneinander verschiedene Antikörper, vollkommen spezifische, die nur auf die zugehörigen Spaltpilze, Körperzellen, Eiweißkörper etc. einwirken, und weniger spezifische, welche auch zu den entsprechenden Bestandteilen verwandter Arten Beziehung haben.

Die Erscheinungen finden durch die von Ehrlich begründete Rezeptorentheorie eine ausreichende Erklärung. Alles spricht dafür, daß die Antikörper Reaktionsprodukte des Organismus sind, welche sich mit bestimmten bindenden Molekülkomplexen der zugehörigen Substanzen chemisch vereinigen. Diese bindenden

Gruppen sind die Träger der Spezifizität. Die verschiedenartig differenzierten Spaltpilze sowohl, wie die Zellen und gelösten Eiweißkörper der einzelnen Tierarten besitzen alle ungleichmäßig ausgebildete bindende Gruppen und geben daher zur Bildung verschiedener zugehöriger Antikörper Veranlassung. Bei nahestehenden Arten können aber auch einzelne gleichartige oder ähnliche Gruppen vorkommen.

Weniger klargestellt ist die Art und Weise der Immunkörperproduktion. Es handelt sich hier um einen komplizierten biologischen Vorgang, der nur schwer experimentell erforscht werden kann. Einige Momente sind dem Versuche aber doch zugänglich. Zunächst ließ sich feststellen, daß die Antikörper-bindenden Gruppen zur Auslösung der Antikörperbildung durchaus notwendig sind; wenn dieselben mit Antikörpern vollkommen besetzt sind, so rufen sie im Tierkörper keine Immunitätsreaktion mehr hervor (v. Dungern u. a.). Durch Versuche mit Majapräzipitin konnte ferner nachgewiesen werden, daß mit Majaplasma vorbehandelte Kaninchen spezifische Veränderungen an den Zellen aufweisen, die auch nach dem Verschwinden des Antikörpers aus dem Blute bestehen bleiben. Die aktiv immunisierten Tiere zeigen eine vermehrte Bindungsfähigkeit gegenüber dem präzipitablen Eiweißkörper, mit dem sie früher in Beziehung getreten sind. Während die Bindung des Majaeiweißes bei normalen Kaninchen durch kurz vorher eingeführtes Octopusplasma oder Hühnereiereiweiß verhindert wird, zeigen sich die Zellen der vorbehandelten Kaninchen befähigt, das Majaeiweiß trotz der vorhergehenden Absättigung durch Octopus- oder Hühnereiereiweiß dem Blute zu entziehen (v. Dungern). Zur Erklärung dieser Erscheinung kann angenommen werden, daß nach der Einführung des Majaplasmas im Organismus spezifische Rezeptoren neu entstehen, welche den bestimmten, dem Majaeiweiß eigenartigen bindenden Gruppen angepaßt sind.

Die Veränderung des Protoplasmas der vorbehandelten Kaninchen dokumentiert sich außerdem noch durch eine andere bemerkenswerte Eigenschaft: die Präzipitinproduktion erfolgt auf die Einführung des Majaplasmas hin bei diesen Tieren schneller und in vermehrter Weise als bei den Normaltieren (v. Dungern). Es liegt nahe, auch dieses Verhalten auf das Vorhandensein neu gebildeter, spezifisch zugehöriger Rezeptoren zurückzuführen. Man könnte sich denken, daß das Präzipitin bei den vorbehandelten

Kaninchen nur deshalb rascher und reichlicher gebildet wird, weil es hier in den Zellen schon im Ueberschuß vorgebildet vorliegt in Form spezifischer bindender Molekülkomplexe, die nur ins Blut abgestoßen zu werden brauchen, um als Präzipitin zu wirken. Für den ganzen Vorgang der Majapräzipitinproduktion wäre dann einzig und allein die spezifische Präzipitin-bindende Gruppe des Majaeiweißes maßgebend, während andere bindende Gruppen, die keine chemische Affinität zum Majapräzipitin besitzen, in keiner Beziehung zu diesem Vorgang ständen. Andererseits könnte man sich aber auch vorstellen, daß durch die Einwirkung von Majaeiweiß kompliziertere Veränderungen der Protoplasmastruktur bedingt werden, welche die Bildung und Abstoßung von Präzipitin überhaupt erleichtern, sobald die Zelle mit irgend einem fremdartigen Eiweißkörper in Beziehung tritt. Es erhebt sich demnach die Frage, ob die bei den aktiv immunisierten Tieren beobachtete Erleichterung der Antikörperbildung auch nicht spezifisch durch Vorbehandlung mit solchen Substanzen zu erzielen ist, mit denen der betreffende Antikörper sich nicht verbindet.

Ich habe, um darüber Klarheit zu gewinnen, meine Untersuchungen über Präzipitinproduktion [1]) dementsprechend ergänzt. Zu den Versuchen, die an der zoologischen Station zu Neapel in den ersten Monaten des Jahres 1903 ausgeführt wurden, benutzte ich auch wieder das Blutplasma von Cephalopoden (Octopus vulgaris, Eledone moschata) und von kurzschwänzigen Krebsen (Maja Squinado, Dromia vulgaris). Als Versuchstiere dienten ausschließlich Kaninchen. Die fremdartigen Eiweißkörper wurden direkt in die Blutbahn durch Injektion in die Ohrvene eingeführt. Zur quantitativen Bestimmung des Präzipitingehaltes verwandte ich die schon beschriebene Verdünnungsmethode. Es wurde jeweils eine Reihe verschiedener Verdünnungen des präzipitinhaltigen Serums mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, derart, daß jede folgende immer $^1/_2$ so viel Präzipitin enthielt, wie die vorhergehende. Von jeder Verdünnung wurde dann ein Tropfen mit einem Tropfen des auf das 100-fache mit Kochsalzlösung verdünnten präzipitablen Plasmas versetzt. Es konnte dann nach etwa 20 Minuten durch mikroskopische Beobachtung bei 100-facher Vergrößerung leicht festgestellt werden, in welcher Weise in den verschiedenen Proben Präzipitatbildung eintrat. Ich unterschied sehr

1) Die Antikörper, Jena 1903.

starken, starken, deutlichen, geringen, fehlenden Niederschlag; die Bezeichnung war dabei so gewählt, daß einem starken Präzipitat in der folgenden Verdünnung ein geringes entsprach, während bei einem deutlichen Niederschlag in der nächsten Verdünnung eine Präzipitatbildung nicht mehr sicher zu konstatieren war. Als Maßstab für den Gehalt der Flüssigkeit an Präzipitin benutzte ich den auf diese Weise definierten starken Niederschlag; die stärkste Verdünnung, bei welcher eine solche Präzipitatbildung noch eintrat, bezeichnete die Wertigkeit der unverdünnten Flüssigkeit in Bezug auf ihren Gehalt an Präzipitin. Die Menge des präzipitablen Eiweißes, das in den Kaninchenorganismus jeweils eingespritzt wurde, konnte ganz entsprechend durch Prüfung der verschiedenen Verdünnungen des betreffenden Plasmas mit zugehörigem Präzipitinserum bestimmt werden.

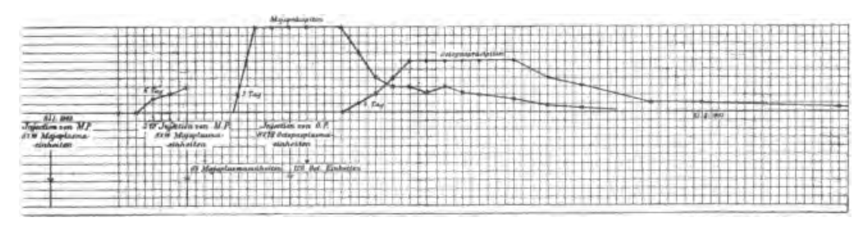
Die Kaninchen wurden zunächst mit einer fremdartigen Plasmaart, entweder mit Cephalopoden- oder mit Majaplasma, vorbehandelt. Da hierbei große Mengen von fremdartigem Eiweiß zur Verwendung kamen, so erfolgte schon auf die erste Injektion eine verhältnismäßig starke Präzipitinbildung; noch viel hochgradiger aber war dieselbe nach der zweiten Einspritzung des gleichen Plasmas. Die Präzipitinproduktion trat dabei ganz entsprechend meinen früheren Beobachtungen nach einer gesetzmäßig bestimmten Latenzzeit ein, die bei der ersten Injektion länger war als bei der zweiten. Bei allen Tieren, denen zum ersten Mal Majaplasma intravenös eingeführt wurde, war das zugehörige Präzipitin nach 5—6 Tagen zuerst nachweisbar. (Bei 5 weiteren Tieren nach 5, bei 3 weiteren nach 6 Tagen.) Alle Kaninchen, denen zum ersten Mal Octopusplasma in die Ohrvene eingespritzt wurde, wiesen zuerst nach 4 Tagen Antikörper im Blute auf, während nach 3 Tagen noch kein Präzipitin im Serum vorhanden war (weitere 11 Tiere). Eine Ausnahme machte nur ein Kaninchen, welches im Gegensatz zu den anderen einer langhaarigen Rasse angehörte; bei diesem Tiere erfolgte die Präzipitinbildung erst einen Tag später (sein Serum war nach 4 Tagen 0, nach 5 Tagen 1—2-, nach 6 Tagen 4-wertig). Nach der zweiten Injektion desselben fremdartigen Eiweißes, die einige Tage nach dem Auftreten des Präzipitins stattfand, erschien das zugehörige Präzipitin in allen Fällen schon nach ungefähr 3 Tagen im Blute.

Nachdem die Präzipitinbildung dem Eiweiß der einen fremden Tierart gegenüber genügend stark eingetreten war, injizierte ich

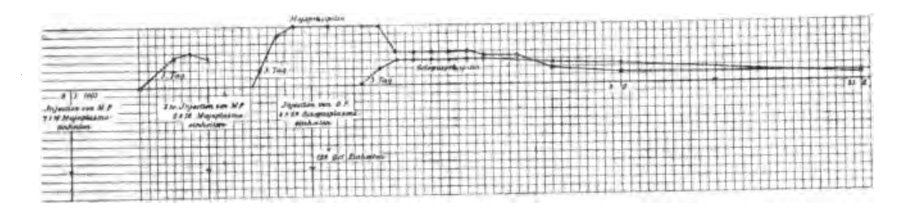
den Versuchstieren die zweite, von der ersten möglichst verschiedene Eiweißart. Krebsplasma und Cephalopodenplasma eigneten sich dazu ganz besonders, da diese Tiere sehr verschieden differenzierten Tierklassen angehören. Es wurde trotzdem aber doch in jedem Falle noch besonders geprüft, ob nicht doch auch solche Präzipitine entstehen, die auf beide Plasmaarten einwirken. Die Untersuchung ergab fast immer vollkommene Verschiedenheit, und zwar auch dann, wenn Präzipitin in sehr großer Menge gebildet wurde. Eine Ausnahme machte nur das Serum eines einzigen Tieres. Bei Kaninchen 9 trat nach der Einwirkung von Majaplasma ein Antikörper auf, der auch Octopusplasma präzipitierte, das für Majaeiweiß 16-wertige Präzipitinserum reagierte, unverdünnt, auch mit Octopuseiweiß. Diese seltene Ausnahmserscheinung zeigt aufs neue, wie sehr man bei biologischen Untersuchungen mit individuellen Verschiedenheiten zu rechnen hat. Die bei den Eiweißkörpern der Krebse und denen der Octopoden gleichartig ausgebildeten bindenden Gruppen geben also nur ganz selten zur Entstehung von präzipitierenden Antikörpern Veranlassung.

Sehen wir nun zu, ob die Art und Weise der Präzipitinproduktion gegenüber einer Eiweißart durch Vorbehandlung mit so ganz anders geartetem Eiweiß eine Veränderung erfährt. Die Versuchsresultate, welche diese Frage entscheiden sollen, sind der Kürze und Uebersichtlichkeit wegen in folgenden Kurven wiedergegeben. Die Abscisse derselben entspricht der Zeit, wobei jeder Abschnitt einen halben Tag bedeutet. Die Höhe der Ordinaten über der Linie drückt den Immunitätswert aus, und zwar entsprechen jedem Teilstrich der Ordinate zwei Wertigkeiten des Serums. Die Senkrechten unter der Linie geben den Gehalt an präzipitabler Substanz wieder, und zwar entspricht jedem Teilstrich diejenige Menge, welche noch in zweifacher Verdünnung mit 16-wertigem Präzipitinserum einen starken Niederschlag gibt.

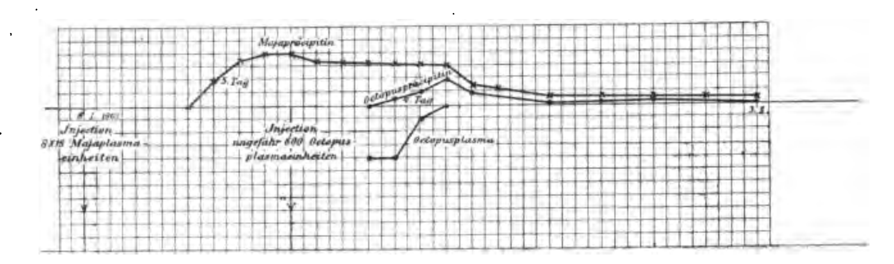
Kaninchen, 1.



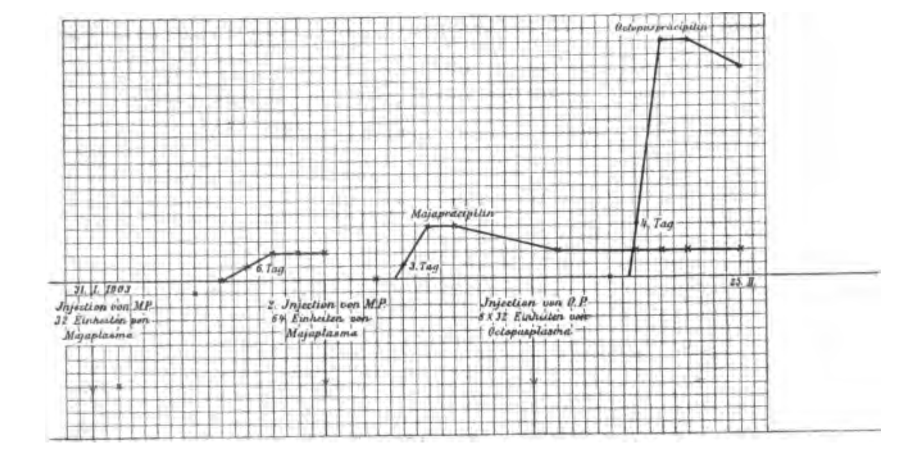
Kaninchen 2.



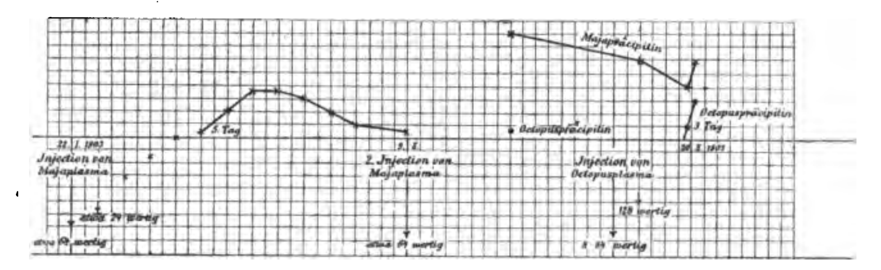
Kaninchen 3.



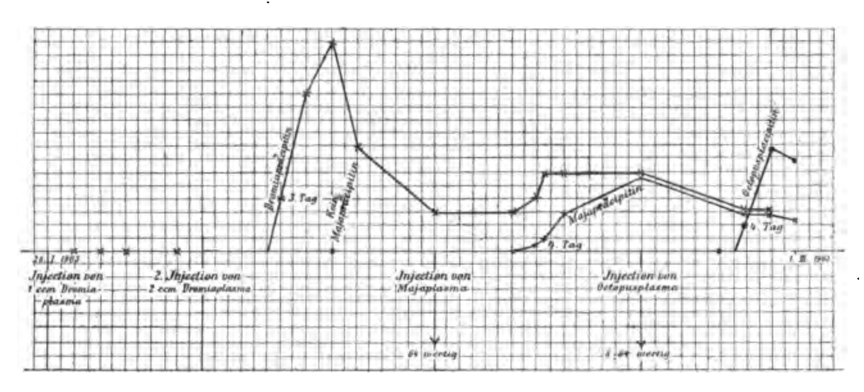
Kaninchen 12.



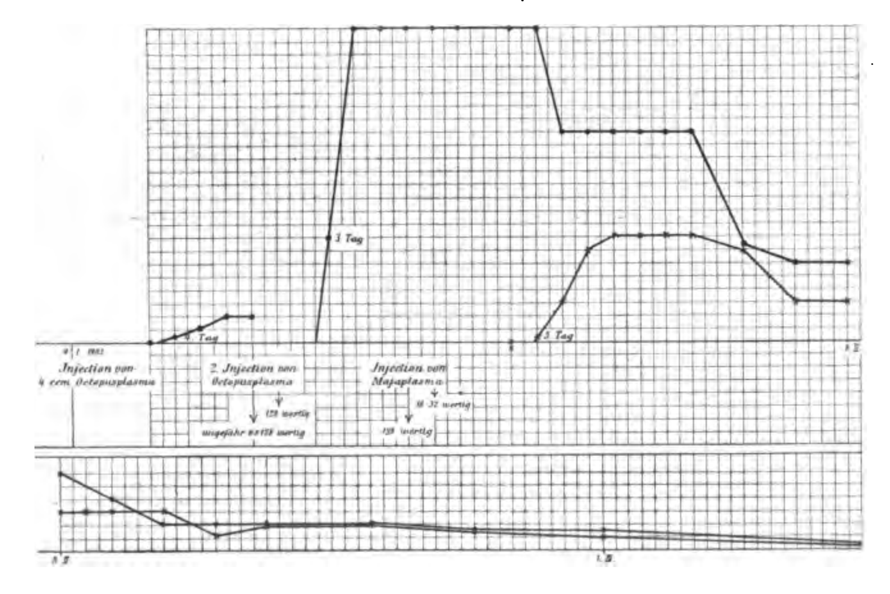
Kaninchen 9.



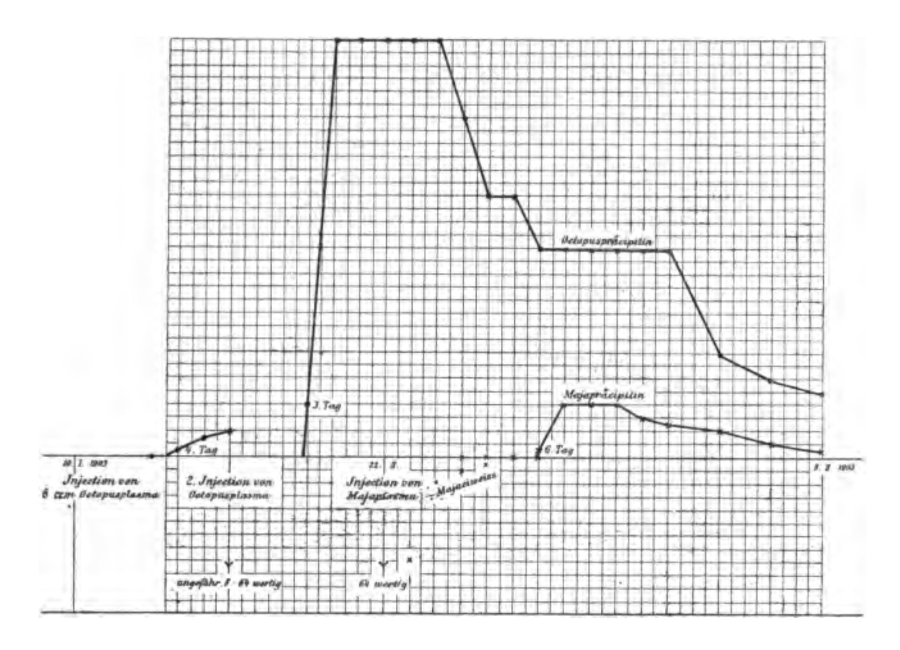
Kaninchen 10.



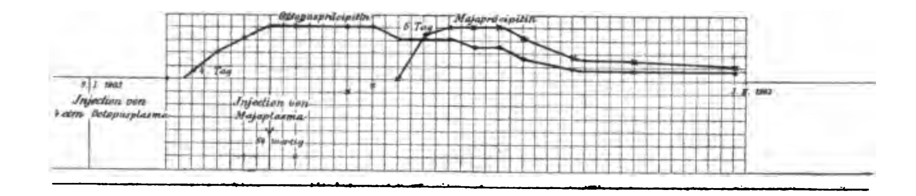
Kaninchen 4.



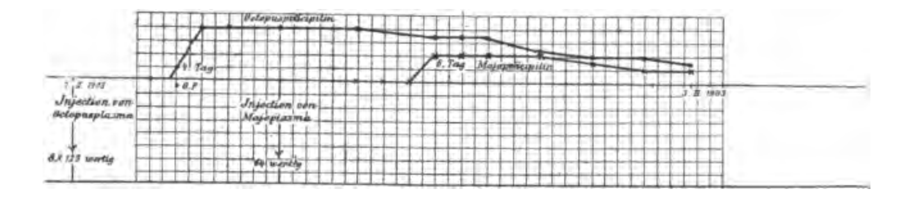
Kaninchen 6.



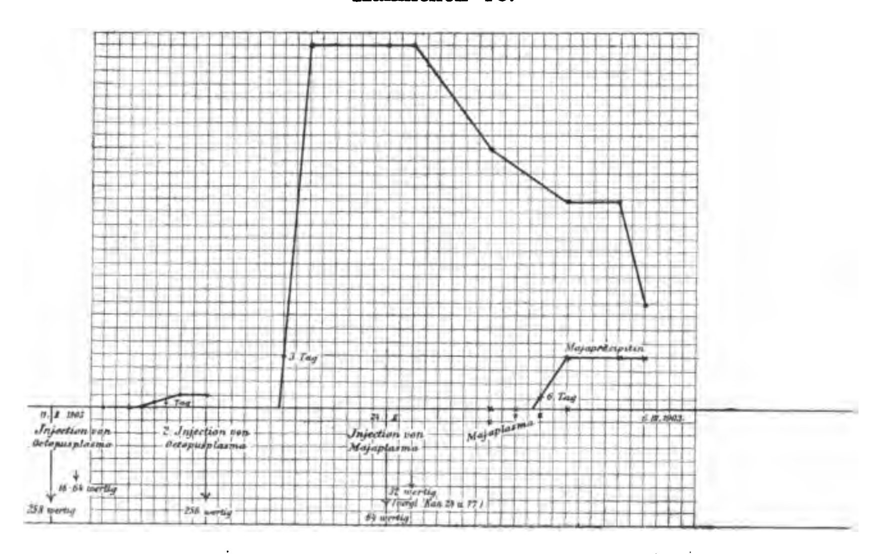
Kaninchen 5.



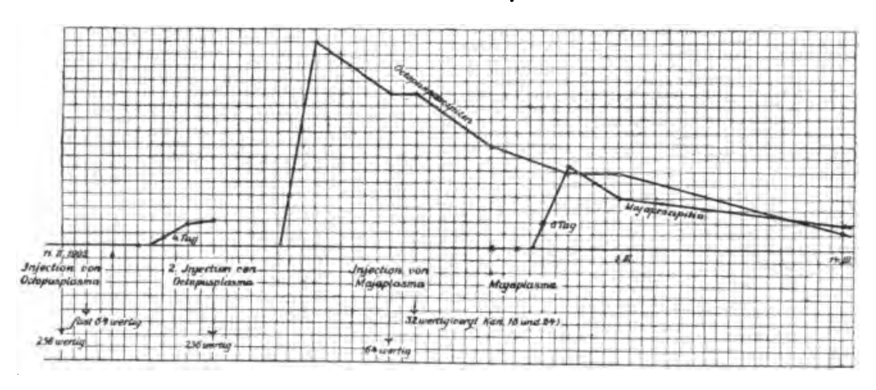
Kaninchen 16.



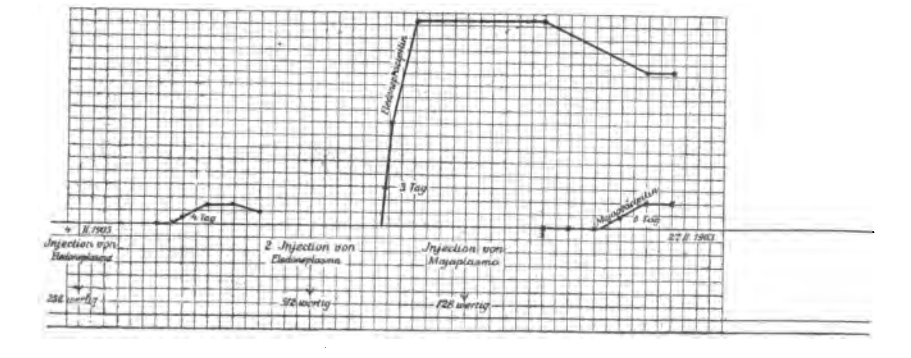
Kaninchen 18.

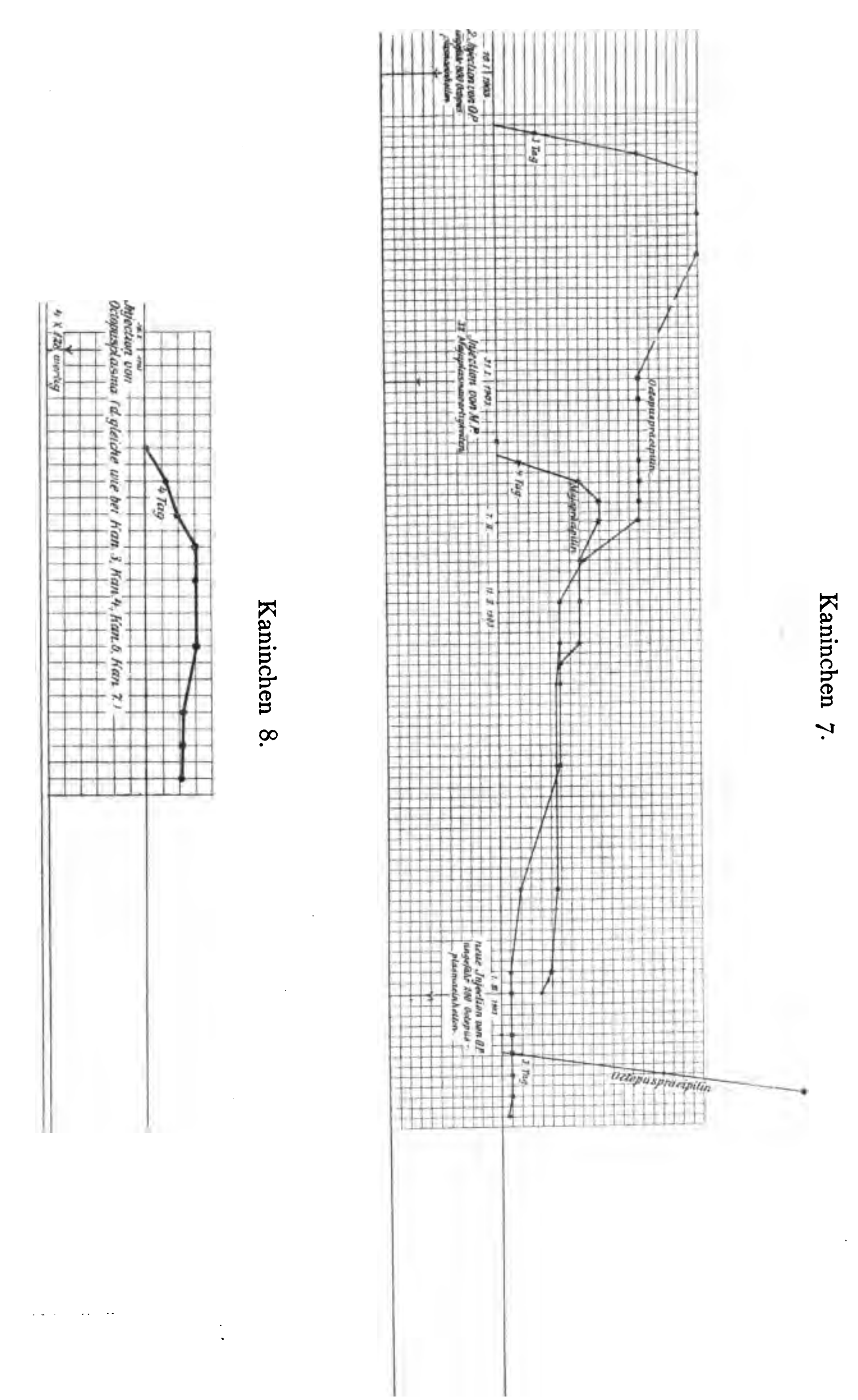


Kaninchen 17.



Kaninchen 15.

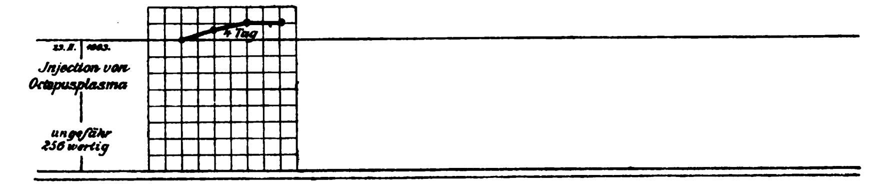




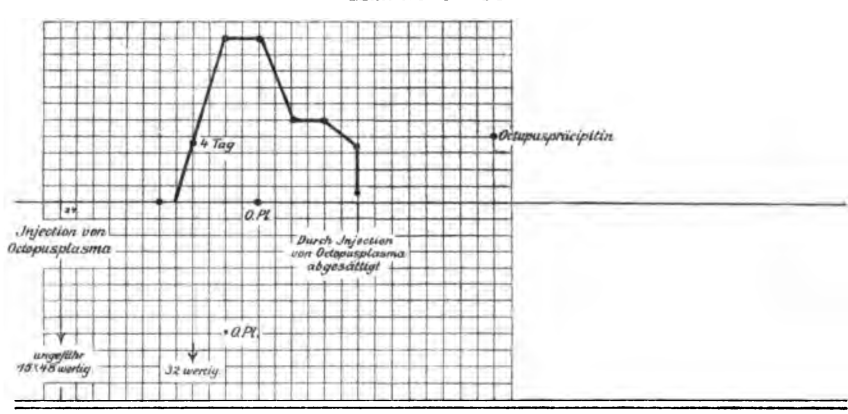
Kaninchen 7.

Kaninchen 8.

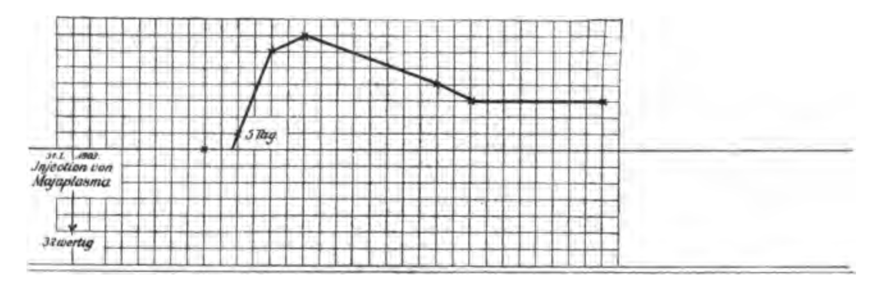
Kaninchen 21.



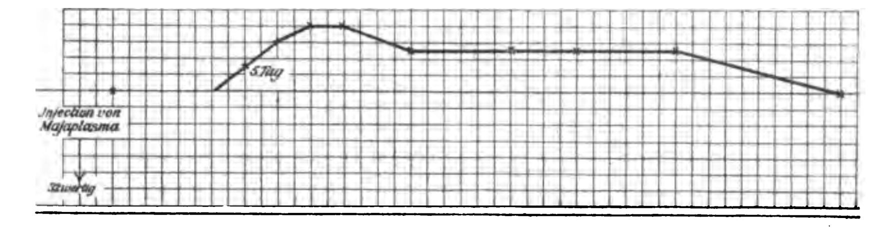
Kaninchen 11.



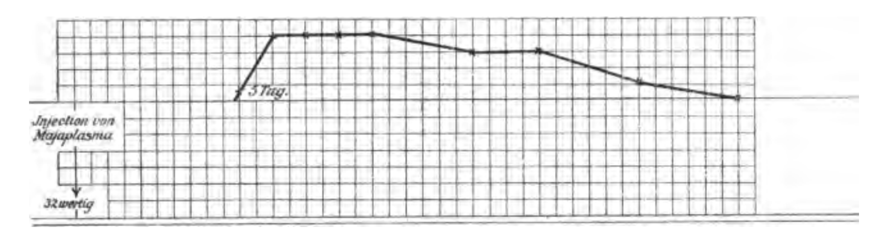
Kaninchen 13.



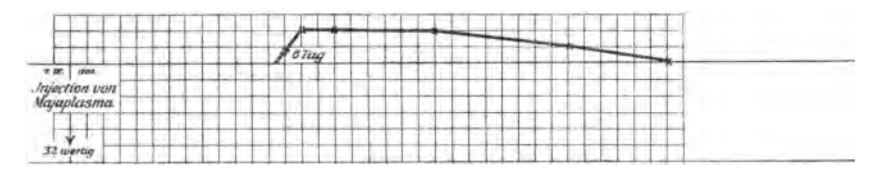
Kaninchen M.



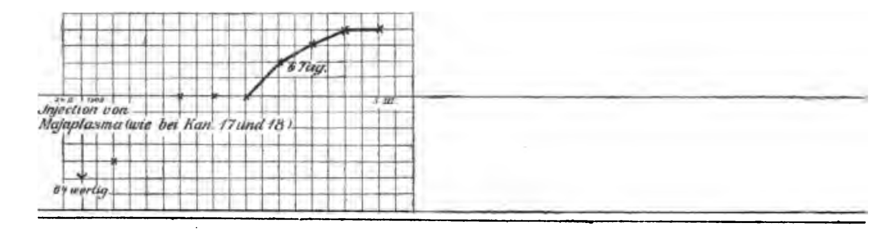
Kaninchen N.



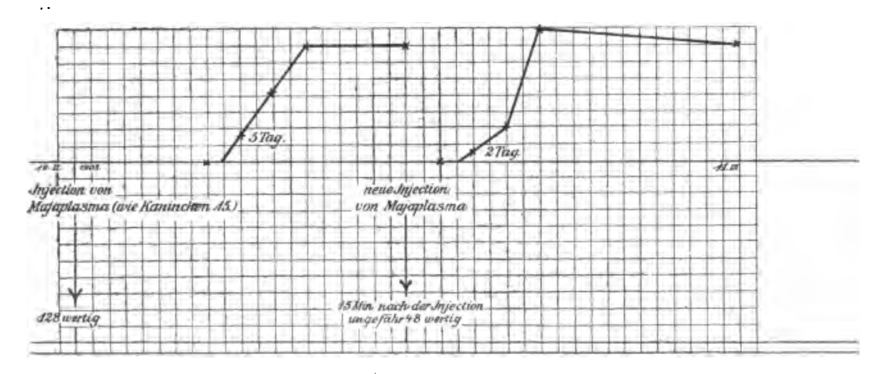
Kaninchen X.



Kaninchen 24.



Kaninchen 20.



Unter den mit Krebsplasma vorbehandelten Tieren unterscheidet sich nur Kaninchen 9 deutlich durch frühzeitigeres Erscheinen des Octopuspräzipitins von den Normaltieren. Dieser

Unterschied erklärt sich aber schon dadurch, daß dieses Tier im Gegensatz zu den anderen auch solches Präzipitin liefert, das an beiden verschiedenartigen Eiweißkörpern angreift. Es spricht dafür die schon erwähnte Bildung von Octopuspräzipitin nach der Injektion von Majaplasma und ebenso der Anstieg des Majapräzipitins, der mit dem ersten Auftreten des Octopuspräzipitins im Anschluß an die Einführung des Octopusplasmas einhergeht. Für die Entscheidung der gestellten Frage kann das Verhalten von Kaninchen 9 demnach nicht in Betracht kommen, da hier eine solche Gruppe des Octopuseiweißes zur Antikörperbildung Veranlassung gegeben hat, die auch am Majaeiweiß vorkommt. Bei Kaninchen 2 ist nach 3 Tagen auch schon eine Spur von Präzipitin zu verzeichnen. Bei Kaninchen 1, Kaninchen 3, Kaninchen 10, Kaninchen 12 enthält das Blut genau wie bei den Normaltieren nach 3 Tagen noch kein Präzipitin. Die Menge des gebildeten Octopuspräzipitins ist bei Kaninchen 12 eine besonders große. Da bei normalen Kaninchen aber sehr erhebliche individuelle Verschiedenheiten in der Stärke des Octopuspräzipitingehaltes vorkommen, so dürfte diese Steigerung wohl auch auf die Individualität des Tieres zurückzuführen sein. Die anderen mit Majaplasma immunisierten Kaninchen verhalten sich auch in dieser Beziehung nach der Injektion des Octopusplasmas nicht anders als gewöhnliche Kaninchen, im Gegensatz zu den spezifisch mit Octopusplasma vorbehandelten, bei denen immer eine sehr hochgradige Erhöhung der Präzipitinproduktion zu konstatieren ist.

Bei den Majapräzipitinkurven sind die durch Vorbehandlung bedingten Unterschiede noch sicherer festzustellen. Die Latenzperiode von der Injektion des Majaplasmas bis zum ersten Auftreten des zugehörigen Antikörpers beträgt bei normalen Kaninchen nicht, wie bei der Bildung des Octopuspräzipitins, 4, sondern 5—6 Tage und wird trotzdem unter dem Einflusse der spezifischen Immunisierung auf 2—4 Tage abgekürzt. Für die Stärke der Antikörperproduktion ist außerdem auch ein besserer Maßstab vorhanden, da die Menge des gebildeten Majapräzipitins nach der ersten Einführung von Majaplasma keinen so erheblichen individuellen Schwankungen unterworfen ist, wie die des Octopuspräzipitins. Die Steigerung der Präzipitinproduktion auf die zweite Injektion des gleichen Plasmas hin ist hier freilich keine so enorme; das Serum der Versuchstiere erreicht nach der zweiten Einspritzung von Majaplasma nur ungefähr die doppelte Wertigkeit an Majapräzipitin, wie nach der ersten.

Die Einführung von Majaplasma wurde bei 8 mit Cephalopodenplasma vorbehandelten Kaninchen vorgenommen. 7 dieser Tiere (Kaninchen 4, Kan. 5, Kan. 6, Kan. 15, Kan. 16, Kan. 17, Kan. 18) weisen ein vollkommen gleichartiges Verhalten auf. Das Majapräzipitin tritt bei ihnen zuerst auf nach 5, 6, 6, 6, 6, 6, 6 Tagen. Zum Vergleiche dienen 11 normale Kaninchen, bei denen das zugehörige Präzipitin 6, 5, 5, 5, 6, 5, 5, 6, 5, 5, 6 Tage nach der Einspritzung des Majaplasmas zuerst zu konstatieren ist. Die höchste Wertigkeit des Serums an Majapräzipitin beträgt bei den 7 Kaninchen mit Octopuspräzipitin 16, 8, 8, 4, 4, 12, 8, im Durchschnitt also 8,57 Wertigkeiten, bei den normalen Kaninchen 6, 8, 8, 8, 4, 14, 14, 8, 8, 8, 4, im Durchschnitt also 8,18 Wertigkeiten.

Die zur Bildung des Majapräzipitins notwendige Zeit ist bei den 7 Octopuskaninchen demnach keineswegs verkürzt, eher könnte man noch an eine geringe Verlangsamung der Antikörperproduktion denken, wenn man aus so geringen Unterschieden überhaupt eine Schlußfolgerung ziehen will. In der Menge des im Serum nachweisbaren Majapräzipitins ist ebenso auch keine nennenswerte Verschiedenheit zwischen Octopus- und Normaltieren zu finden. Die 7 nicht spezifisch vorbehandelten Kaninchen verhalten sich also nicht wie Immuntiere, sondern wie gewöhnliche Kaninchen, denen Majaplasma zum ersten Mal in die Blutbahn gebracht wird.

Kaninchen 7 steht zu diesen Versuchsresultaten in vollem Gegensatz. Bei diesem auch mit Oktopusplasma vorbehandelten Tier erscheint das Majapräzipitin schon 4 Tage nach der Einspritzung des Majaplasmas im Blute. Nach 6 Tagen erreicht die Kurve des Majapräzipitins schon ihren höchsten Stand, der einer viel größeren Präzipitinmenge entspricht, als sie sonst bei nicht mit Majaplasma vorbehandelten Kaninchen zu beobachten ist. Es lag nahe, diese Verschiedenheit dadurch zu erklären, daß es sich hier, wie bei Kaninchen 9, um ein solches Präzipitin handelt, das sowohl zum Majaeiweiß, wie zum Octopuseiweiß Beziehung besitzt. Ich habe daher geprüft, ob das Majapräzipitin auch von Octopusplasma gebunden wird. Das Serum des Kaninchens wurde 5 Tage nach der Injektion des Majaplasmas mit Octopusplasma vermischt. Es trat durch Verbindung von Octopuseiweiß und Octopuspräzipitin ein starker Niederschlag ein, der durch die Zentrifuge entfernt wurde. Die Flüssigkeit enthielt dann Octopus-



eiweiß und kein Octopuspräzipitin mehr. Eine nennenswerte Abnahme des Majapräzipitins erfolgte dabei jedoch nicht. Die frühzeitige Bildung des Majapräzipitins in diesem Falle ist also nicht durch eine sowohl beim Octopus- wie beim Majaeiweiß vorkommende Gruppe ausgelöst worden, deren Besetzung für beide fremdartige Eiweißkörper Präzipitation zur Folge hat. Dafür spricht auch der Verlauf der Octopuspräzipitinkurve, der während des Auftretens des Majapräzipitins keine Veränderung erfährt. Die Möglichkeit, daß es sich um eine solche gemeinschaftliche Gruppe handelt, durch deren Vermittelung nur Majaeiweiß, nicht aber Octopuseiweiß niedergeschlagen wird, kommt auch nicht in Frage, da auch nach der zweiten Injektion von Octopusplasma keine Veränderung im Gehalt des Serums an Majapräzipitin zu konstatieren ist, während Octopuspräzipitin in sehr großer Menge gebildet wird. Man muß daher annehmen, daß die bei Kaninchen 7 schon 4 Tage nach der Einführung des entsprechenden Majaplasmas einsetzende Majapräzipitinproduktion unabhängig von solchen bindenden Gruppen erfolgt ist, die auch beim Octopusplasma vorkommen. Ob die frühzeitigere und stärkere Antikörperbildung gegenüber Majaeiweiß bei diesem Tiere überhaupt durch die Einwirkung der vorausgehenden Einführung von Octopusplasma bedingt ist, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden. Ich halte es aber für viel wahrscheinlicher, daß eine von der Vorbehandlung unabhängige individuelle Verschiedenheit hier vorliegt. Alle anderen Fälle führen zu einem so gleichartigen, übereinstimmenden Resultate, daß dieses durch eine einzige Ausnahme nicht umgestoßen werden kann.

Im besten Einklange mit dieser Anschauung steht auch das Ergebnis weiterer Versuche, bei denen nicht so ganz verschiedenartige, sondern näher verwandte Plasmaeiweiße nacheinander eingeführt wurden.

Kaninchen 3 (Fortsetzung).



Kaninchen 5 (Fortsetzung).

Octopuspräzipitin
Eledonepräzipitin
3. Tag
13. II. 1903
Injection von 8 ccm
Eledoneplasma

Kaninchen 1 (Fortsetzung).

Dromiapräzipitin
Majapräzipitin
3. Tag
9. II. 1903
Injection von 6 ccm
Dromiaplasma

Die so behandelten Kaninchen (Kan. 10, Kan. 1, Kan. 3, Kan. 5) verhalten sich alle so, wie Kaninchen 9. Das Präzipitin erscheint hier nach der Einführung des zweiten fremdartigen Plasmas ebenso wie bei spezifisch vorbehandelten Tieren rascher als bei nicht beeinflußten. Es zeichnet sich aber dadurch aus, daß es in der ersten Zeit beide verwandte Eiweißarten gleich stark präzipitiert, während spezifisches, nur die unmittelbar zur Antikörperbildung Veranlassung gebende Plasmaart fällendes Präzipitin erst dann auftreten kann, wenn die für normale Kaninchen gesetzmäßige Latenzperiode verstrichen ist. Das durch Injektion von Blutplasma einer einzigen Cephalopoden- oder Krebsart gewonnene Präzipitinserum wirkt dagegen, wie aus meinen schon mitgeteilten [1]) Beobachtungen zu ersehen ist, auf das zugehörige Eiweiß immer erheblich stärker ein als auf das nur verwandte.

Die nicht spezifische Beeinflussung durch ein anderes fremdartiges Eiweiß erleichtert also auch in diesen Fällen in keiner Weise die Produktion desjenigen Präzipitins, das zu anderen als den bei der Vorbehandlung eingeführten Gruppen Beziehung hat. Der Vorgang der Antikörperbildung ist demnach abhängig von ganz bestimmten bindenden Molekülkomplexen, er wird durch diese nicht nur ausgelöst, sondern, wie die Versuche zeigen, in seinem ganzen Verlaufe beherrscht.

1) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Bd. XXXIV, No. 4, 1903, S. 369.



